Ueber die

Entwicklung und Proliferation

von

Epithelien und Endothelien.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung

der medicinischen Doctorwürde

der medicinischen Facultät zu Strassburg vorgelegt

am 21. Juli 1873

von

Justus von Zielonko.

Bonn,

Druck von Carl Georgi.

1874.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Strassburg. Referent Prof. v. Recklinghausen.

Der Decan Prof. Dr. Lücke.

Seinem hochverehrten Lehrer

Herrn Prof. von Recklinghausen

aus Dankbarkeit.

Seinem hochverehrten Lehrer

Herrn Prof. von Recklinghausen

aus Dankbarkeit.

Die wichtige Rolle, welche die Epithelien und Endothelien, sowohl bei physiologischen als auch pathologischen Vorgängen spielen, so wie die ungemein selbstständige Entwicklungsfähigkeit, welche die Epithelschicht der äusseren Häute bei der durch Reverdin eingeführten Epithelialpropfung documentirte, hat in neuester Zeit zu zahlreichen Untersuchungen Anlass gegeben, um festzustellen, was das allererste Material für die Entwicklung dieser Zellenarten liefert. Die Meinungen, welche auf Grund dieser Untersuchungen ausgesprochen worden sind, stimmen nicht überein, vielmehr sollen nach ihnen die Entstehungsweisen von Epithelialzellen sehr mannichfaltiger Natur sein. So leitet Biesiadecki die Entstehung der Epithelien von weissen Blutzellen ab, von Pigmentzellen der Epidermis, oder des Corion, endlich von, aus Gefässen des letzteren, ausgewanderten Blutzellen, die nachträglich Pigment aufnehmen und zu Epithelien werden. Im Gegensatz hierzu leitet Arnold zufolge seiner Experimente über Regeneration des Epithels, die jungen Zellen aus einem zunächst zellenlosen Blastem ab, welches seinerseits ebenfalls aus dem Blut herstammen würde. Andere Untersuchungen, welche Veyda vorläufig mitgetheilt hat, bezogen sich auf Cancroid-Epi-

thelialzellen. Nach dem genannten Autor entstehen die letzteren aus den Kernen der Gefässe, welche unterhalb der Grenze der physiologischen Epithelien gelegen sind, oder nur aus Epithelzellen, die mit jenen Gefässen im Zusammenhang stehen. Die Productionsfähigkeit der Epithelien sollte aufhören, wenn diese nicht als »gestielte Zellen«, »Fusszellen«, »perennirende Zellen« in directem Zusammenhange mit Gefässen stehen. Bekannt ist nur und von verschiedenen Seiten, am energischsten von Waldeyer obigen Aufstellungen entgegen gehalten worden, dass bei der Entwicklung des Embryo neue Epithelzellen aus früheren, durch fissipare oder endogene Zelltheilung, also unabhängig von den Elementen in der Blutbahn entstehen. Die nachfolgenden Untersuchungen, welche ich nach den Angaben des Herrn Professor von Recklinghausen anstellte, suchten daher die Frage zu entscheiden, ob am ausgewachsenen Thiere neue Epithelialzellen entstehen können, ohne Betheiligung der Blutbahn unter Verhältnissen, wo ihr normaler Zusammenhang mit den übrigen blutführenden Geweben des Körpers aufgehoben ist. Es kam hierbei zunächst darauf an, isolirtes Epithelialgewebe in ein günstiges Ernährungsmaterial zu bringen. — Die Epithelien befinden sich nun bekanntlich auf der Hautoberfläche ziemlich weit von den Blutgefässen entfernt und die ersteren werden durch die letzteren nur indirect ernährt, nämlich durch Transmission der lymphatischen Gewebsflüssigkeit vermittels der Saftcanälchen, welche sich der Oberfläche mehr nähern. Die Lymphe war also für die zur Untersuchung entnommenen Epithelien das naturgemässeste Ernährungsmaterial. Sehr reichliche Lymphe enthalten die Lymphsäcke des Frosches, welche ich daher zu meinen Experimenten benutzte, indem ich die betreffenden Untersuchungsobjecte nach ihrer Abtrennung in dieselben hineinbrachte. Es ergab sich alsbald, dass abgeschabte Epithelien zu diesen Untersuchungen nicht geeignet sind, da man sie nachher nur schwer wiederfindet. Ich führte desshalb die Hornhaut des Frosches in toto, oder nachdem sie in einzelne Membranen zerlegt war, in jene Säcke ein. Die zur Ausführung dieser Operation befolgte Methode wird hier zunächst kurz besprochen. Das für meine Zwecke bequemste Instrument war das Graefe'sche Linearmesser, welches jedesmal vor der Untersuchung genau gereinigt werden muss. Mit demselben machte ich kleine Längsschnitte in den Rückenlymphsack des Frosches auf einer Seite der Wirbelsäule in der Höhe des Schulterblattes.

Durch die so entstandenen Oeffnungen führte ich die Untersuchungsobjecte mit dem Linearmesser tief in den Lymphsack ein, wobei alle Zerrungen der durch den Lymphsack hindurch gehenden Hautnerven vermieden werden mussten, welche ja leicht Entzündung und damit Erfolglosigkeit des Experiments veranlassen konnten. Entzündungen kommen bei der Einführung von Objecten in andere Lymphsäcke, z. B. am Ober- oder Unterschenkel, weniger leicht vor; allein ich habe gefunden, dass bei genügender Vorsicht der Rückenlymphsack doch der geeigneteste ist. Es beruht dies auf seiner Grösse, sowie auf der Leichtigkeit, mit der sich die eingeführten Objecte im Sack senken, indem sie bei Adhärenz an den Lymphsackwandungen Entzündung desselben erregen. Ausserdem aber sind die betreffenden Objecte auch hier am leichtesten wiederzufinden, wenn man nur, nachdem das Thier geköpft ist, zwei Längsschnitte an den Hautwülsten beiderseits der Wirbelsäule, welche die Scheidewände zwischen dem Rücken- und Bauchlymphsack bezeichnen, macht und die so abgetrennte Hautleiste nach aussen klappt. Das eingeführte Object findet man dann frei in der Lymphflüssigkeit schwimmend, wenn es nicht durch consecutive circumscripte Entzündung mittels Fibrin mit den Hautnerven oder Rückenmuskeln verbunden ist. Was die Grösse der zu verwendenden Frösche anbelangt, so habe ich gefunden, dass mittelgrosse am geeignetsten sind, da sie die Operation leichter vertragen als kleine, und dieselbe bei ihnen leichter auszuführen ist, als bei ganz grossen. Die Lymphe ist in einer für die Ernährung der eingeführten Epithelien genügenden Menge schon bei mittelgrossen und sogar bei kleinen vorhanden. Gleich nach Ausführung der Operation wurden die Frösche in Gläser gesetzt, welche bis zur Mitte mit Wasser gefüllt waren, so dass die Thiere um zu athmen an die Oberfläche des Wassers emporsteigen mussten, wobei sie eine ziemlich verticale Lage einnahmen, welche bewirkte, dass das Object, falls es nicht gleich tief genug eingeführt worden war, oder an den Wandungen des Lymphsacks anhaftete, sich senkte. Unter diesen Verhältnissen verblieben die Thiere 24 Stunden, während welcher Zeit die Wunden zu heilen pflegten. Danach aber wurde jeden Tag nur soviel frisches Wasser zugegossen, dass die Thiere bequem am Boden des Glases sitzen und athmen konnten. So viel über die Methode. Gehen wir über zu den Experimenten selbst.

Die von mir ausgeführten Experimente kann ich in zwei Gruppen

besprechen, von denen die erste sich auf die platten und flimmernden, sogenannten wahren Epithelien, die andere sich auf die Endothelien bezieht.

Die platten Epithelien, wie bereits oben erwähnt wurde, studirte ich hauptsächlich an der Hornhaut, welche man auf zweierlei Weise in den Lymphsack einführen kann, nachdem sie bis zur Conjunctiva exstirpirt ist; entweder setzt man das Linearmesser im Mittelpunkte der inneren mit der Descemet'schen Haut bekleideten Fläche an, dann fällt die Hornhaut nach abwärts, aussen mit dem Epithel bekleidet; oder man setzt die Spitze des Messers im Mittelpunkt der mit Epithel bekleideten Hornhautfläche an, während die Descemet'sche Membran nach aussen liegt, führt dann die Hornhaut in der eben besprochenen Weise in den Lymphsack ein und lässt dieselbe dort 1, 2, 3, 4, 6 Wochen bis 2, 3, 4 Monate verbleiben. Bei Herausnahme findet man, je nachdem die Epithelialfläche nach aussen oder nach innen gekehrt ist, Verschiedenheiten. Im ersten Falle adhärirt die Hornhaut entweder am Lymphsack oder nicht. Sind solche Verbindungen mit dem Lymphsack oder den Hautnerven vorhanden, so war die Hornhaut mit einer mehr oder weniger dicken Fibrinschicht bedeckt, die mit ihr einen undurchsichtigen Klumpen bildete. Schwamm dagegen die Hornhaut vollständig frei im Lymphsack oder war sie nur mit einigen dünnen Fädchen adhärent, so sah man schon nach einer Woche, dass sie in ein ziemlich durchsichtiges, prall mit Flüssigkeit gefülltes, eiförmiges Bläschen umgewandelt war, das sich im Laufe der zweiten, dritten, vierten, ja mitunter bis zur sechsten Woche vergrösserte (grösster Längsdurchmesser 122 M., grösster Querdurchmesser 97 M., Blase nach zwei Monaten herausgenommen). Wurde das Bläschen innerhalb dieser Zeit herausgenommen, so liess sich bei gut gelungenem Experiment schon makroskopisch erkennen, dass es aus zwei Bläschen, einem äusseren und einem inneren, besteht, welche aber nicht vollständig von einander getrennt sind, sondern in einem Punkte oder auch einer Linie zusammenhängen, dass ferner das äussere Bläschen aus einer ganz feinen Membran besteht, während die Membran des inneren dichter und undurchsichtiger erscheint. Bringt man nun dieses Bläschen in ein kleines Uhrglas, welches mit einer schwachen Kochsalzlösung gefüllt ist und betrachtet es mit Hartnack System II Ocular 3, so erkennt man, dass die Membran des äusseren Bläschens aus feinen Zellen besteht, welche mosaikartig angeordnet

sind und der Anordnung nach offenbar Epithelialzellen darstellen, während das innere Bläschen eine undurchsichtige streifige, scheinbar bindegewebige Wandung hat. Drehte ich das Bläschen so, dass die erwähnte Verwachsungslinie nach oben lag, so sah ich, dass dieselbe ziemlich breit ist, das innere Bläschen zwischen den beiden Rändern der Linie durchschimmert und das äussere sich von hier nach allen Seiten abhebt. Die Verwachsungsstelle selbst ist rinnenförmig vertieft und enthält oft Pigment, welches mit dem Irispigment übereinstimmt und bei der Exstirpation der Hornhaut mit abgelöst wurde. In Fällen, wo viel Pigment vorhanden ist, kann die Verwachsungslinie deutlicher markirt sein. Die Verwachsungslinie kann durch zufälliges Einschneiden der Hornhaut bei ihrer Exstirpation kreuzförmig sein, in welchem Falle eine leichte Einschnürung der beiden Bläschen entsteht (Fig. 1a). Ich liess nun ein solches Bläschen längere Zeit, eine Woche und mehr, in Kochsalzlösung liegen und betrachtete dasselbe innerhalb dieser Zeit mehrmals unter dem Mikroskop. Ich sah wie sich durch diese Behandlung von dem äusseren Bläschen nach innen hin eine Membran abgelöst hatte, welche eben aus jenen mosaikartig angeordneten Zellen bestand, während die äussere Schicht des Bläschens von einer ganz feinen, vollkommen durchsichtigen, structurlosen Membran gebildet wurde, an welcher nur hie und da weisse Flecken zu Tage traten. Die nach innen hin abgetrennte Membran hatte mitunter an einer Stelle ein Loch, durch welches ich an dem innern Bläschen feine Linien erkennen konnte. Dieses letztere Bläschen war nach genauerer Untersuchung durch Verwachsung der eingeführten Hornhauträndер entstanden (Fig. 2). Nun wurde die äussere durchsichtige Membran mit der Scheere kreuzförmig aufgeschnitten, dann, nachdem Alles zwischen ihr und der innern Blase gelegene mit Wasser herausgespült war, von der innern Blase getrennt, in Glycerin ausgebreitet und mit System 7 betrachtet. Ich sah, dass die Membran in der That ganz homogen war; an einigen Stellen fanden sich feine Linien, welche der Ausdruck von Falten der Membran waren, an andern hafteten, vereinzelt oder in Gruppen, die Hornhautepithelien. Diese Verhältnisse findet man in der Regel an Hornhäuten, welche 6 Wochen bis 2 Monate im Lymphsack gelegen haben. Bei noch längerem Verweilen im Lymphsack fangen gewöhnlich die Blasen an zu collabiren, platten sich ab, in Folge der Abnahme der Flüssigkeit sind ihre Wandungen nur wenig gespannt, ja mit-

unter sind die Bläschen nach 3 bis 4 Monaten schon so klein geworden, dass sie nur schwierig oder auch gar nicht mehr im Lymphsack zu finden sind.

Ist die Epithelialfläche der Hornhaut dagegen nach innen gekehrt, so erhält man nach Einführung derselben in den Lymphsack eiförmige Blasen, deren Wandungen fast nur von der Hornhaut gebildet werden (grösster Längsdurchmesser 89 M., grösster Querdurchmesser 51 M., nach 6 Wochen herausgenommen). An solchen Blasen, die nach 2 bis 6 Wochen aus dem Lymphsack herausgenommen werden, ohne Entzündungen erregt zu haben, sieht man schon bei schwacher Vergrösserung, dass ihre Wandungen von einer ähnlichen Membran gebildet werden, wie sie als innere bei den Blasen der ersten Art beschrieben wurde. Die Peripherie dieser Blasen ist von einem hellen Saum umgeben, in welchem bereits bei schwacher Vergrösserung Hornhautkörperchen angedeutet sind. Nach der Mitte verlaufen dicht gedrängt mehr oder weniger gekrümmte Falten, welche hier an einem von Pigmentkörnchen umgebenen schmalen Streifen, der Verwachsungsstelle der Schnittränder der Hornhaut, endigen. Dieses Pigment rührt wiederum von der Iris her (Fig. 3a).

Um nun die verschiedenen Schichten der in eine Blase umgewandelten Hornhaut zu studiren, muss man die Blase erhärten und dann zur Herstellung der Schnitte in eine Masse von Paraffin, Wachs und Oel von der zur Anfertigung mikroskopischer Schnitte nothwendigen Consistenz einkitten. Die Erhärtung der Blasen wird vorgenommen, indem dieselben auf ein paar Tage in verdünnte (1 : 3 Aq. dest.), sodann für 4—5 Tage in unverdünnte Müller'sche Flüssigkeit gelegt werden. Die Hornhaut präsentirt sich in Schnitten unter dem Mikroskop als Leiste, an der drei normale Schichten zu unterscheiden sind, nämlich die Epithelialschicht, die Descemet'sche Membran und zwischen beiden die Bindegewebsschicht. Diese Leiste ist auf verschiedene Art mit einer andern, aus zwei Schichten bestehenden Leiste verwachsen. Letztere beiden Schichten sind 1. eine neugebildete Epithelialschicht und 2. jene oben beschriebene homogene dünne Membran, oder eine dickere Fibrinschicht. Der Einfachheit halber wollen wir die letztere Schicht allgemein die Fibrinschicht nennen. Die Querschnitte lehren also ganz im Allgemeinen, dass fünf Schichten aufeinander folgen, von denen zwei die Wand der äusseren, drei die Wand der innern Blase bilden. Die Vertheilung dieser Schichten

an den verschiedenen Punkten der Blase ist allerdings verschieden; fünf Schichten sind auch nicht überall, vielmehr oft nur drei Schichten da vorhanden, wo die Blase eine einfache, nicht eine doppelte Wandung hat. Die doppelwandige Blase mit fünf Schichten war gebildet, wenn die Epithelialfläche der eingeführten Hornhaut nach aussen, die einwandige mit drei Schichten, wenn sie nach innen gelagert war. Folgende Variationen in der Anordnung der Schichten sind zu unterscheiden (Fig. 4 A_1—F_8, siehe Erklär. d. Abbildg.).

A. Die Hornhaut stellte einen Bogen dar, dessen beide Enden durch eine Fibrinschicht verbunden sind. Die Fortsetzung dieser Fibrinschicht umgiebt die ganze äussere, mit dem normalen Epithel bedeckte Fläche der Hornhaut. Die Epithelialschicht schlägt sich an den beiden Enden des Bogens nach aussen um und wächst als neue Epithelialschicht zwischen der alten und Fibrinschicht weiter, welcher letzteren sie fest anliegt (Fig. 4 A_1). Andere ähnliche Fälle weichen von dem oben beschriebenen nur dadurch ab, dass die Hornhaut gegenüber der Verwachsungsstelle der beiden Enden etwas nach innen eingebogen ist (Fig. 4 A_2); oder dadurch, dass die beiden Verwachsungsenden über einander gehen (Fig. 4 A_3). Betrachten wir nun, wie die verschiedenen Schichten und die zwischen ihnen liegenden Höhlen auf einander folgen, von aussen nach innen gezählt, so finden wir: Fibrinschicht, neue Epithelialschicht, dann eine Höhle, alte Hornhaut-Epithelialschicht, Bindegewebsschicht der Hornhaut, Descemet'sche Membran, darauf zweite Höhle, an den Schnitträndern der Hornhaut geschlossen durch die Fibrinschicht.

B. Die Hornhaut ist geknickt, die Convexität der Knickung entspricht der Epithelialschicht, die Concavität der Descemet'schen Membran. Die innere Höhle ist nicht abgeschlossen, weil eine die Schnitträndер der Hornhaut verbindende Fibrinschicht nicht zu Stande gekommen ist, die Descemet'sche Membran vielmehr nackt zu Tage liegt (Fig. 4B). Die alte Epithelialschicht klappt sich an beiden Hornhautenden nach aussen um und verläuft dann als neue Epithelialschicht, der inneren Fläche der Fibrinschicht sich anschliessend und damit die äussere Höhle begrenzend.

C. Die Hornhaut bildet einen Winkel von 90%, der sich jedoch in manchen Fällen so sehr verkleinern kann, dass seine beiden Schenkel sich fast berühren. An der Convexität der Knickung liegt zu äusserst und ganz nackt die Descemet'sche Membran, an der Con-

cavität die alte Epithelialschicht. Die beiden Hornhautenden sind durch eine Fibrinschicht verbunden, welche sich bei kleinem Winkel in diesen hinein erstrecken kann (Fig. 4 C_1), bei grossem aber gerade verläuft (Fig. 4 C_2). Die alte Epithelialschicht wendet sich an beiden Enden der Hornhaut nach innen um und läuft längs der innern Fläche der Fibrinschicht als neue Epithelialschicht weiter.

D. In der Mitte der Hornhaut-Epithelialfläche ist eine Falte gebildet, die entweder weit klaffend oder eng sein kann. Von dieser Falte aus verläuft die Hornhaut entweder nach beiden Seiten hin gerade bis zu ihren beiden Enden (Fig. 4 D_1), oder sie bildet einen Bogen, dessen Convexität mit der alten Epithelialschicht, dessen Concavität mit der Descemet'schen Membran bekleidet ist, welche letztere auch die Aussenfläche des übrigen Theils der Hornhaut bedeckt (Fig. 4 D_2). Eine längs der Hornhautepithelialfläche verlaufende Fibrinschicht verbindet die beiden Hornhautenden, an denen sich die alte Epithelialschicht nach innen umwendet, um als neue die innere Fläche der Fibrinschicht zu bekleiden.

E. Die Hornhaut bildet ein Hufeisen, dessen beide Enden sich so umwenden, dass zwei weitere Bogen entstehen, deren Convexität nach der entgegengesetzten Seite gerichtet ist, wie die des Hauptbogens. Die convexe Seite des letzteren ist von der Descemet'schen Membran bekleidet, welche von hier auf die concaven Seiten der beiden anderen Bogen übergeht, während die concave Seite des ersten Bogens von der alten Epithelialschicht bedeckt ist, die von hier auf die convexen Seiten der beiden andern Bogen übergeht. Die Fibrinschicht fehlt. Die alte Epithelialschicht klappt sich an beiden Hornhautenden so um, dass sie als neue Epithelialschicht zunächst längs des Hornhautbindegewebsquerschnitts verläuft, von hier aber auf die von der Descemet'schen Membran bedeckte Convexität des Hauptbogens übergeht (Fig. 4 E).

An mikroskopischen Schnitten von erhärteten Blasen, welche sich bei Einführung der Hornhaut mit nach innen gekehrter Epithelialschicht gebildet haben, erkennt man:

F. dass die innere Blasenfläche mit Epithel, die äussere mit der Descemet'schen Membran bekleidet ist. Die beiden Hornhautenden stehen mehr oder weniger von einander ab und sind durch eine Fibrinschicht verbunden, deren innere Fläche von einer neuen Epithelialschicht bekleidet ist. Diese Schicht von jungen Epithelien präsentirt sich in mikroskopischen Schnitten in der Form

zweier Leisten, die von den beiden Hornhautenden ausgewachsen sind und, der inneren Fläche der Fibrinschicht dicht anliegend, in der Mittellinie dieser zusammentreffen (Fig. 4 F_1, F_2), wo sie in einer mehr oder weniger deutlich ausgesprochenen Verdickung mit einander verschmelzen (Fig. 4 F_3).

Nachdem wir das Aussehen der Blasen sowie den Zusammenhang der einzelnen Schichten, aus welchen sie bestehen, kennen gelernt haben, können wir zu dem Verhalten der alten und der Entwickelung der neugebildeten Schichten selbst übergehen.

Die erste bei der Bildung der Blasen in Betracht kommende Schicht ist die äusserste, welche, wie bereits bemerkt, aus Fibrin oder aus homogenem Gewebe oder endlich aus beiden zusammen bestehen kann. Sie bewirkt das Zustandekommen der Blasen, da sie die Verwachsung der Ränder der exstirpirten Hornhaut vermittelt. Die chemischen Vorgänge, von welchen die Bildung der Fibrinschicht überhaupt abhängig ist, kennen wir nicht, wir müssen uns mit der Thatsache begnügen, dass jene Bildung stattfindet. Dieselbe kann bei den vorliegenden Experimenten auf zweierlei beruhen. Entweder ist sie durch Entzündung bedingt, in welchen Fällen man die Fibrinschicht sehr dick findet, oder die Gerinnung findet in Folge einer specifischen Aufeinanderwirkung der Epithelien und Lymphflüssigkeit Statt. Die Ausdehnung, in welcher das Fibrin gebildet wird, richtet sich darnach, ob bei der Einführung der Hornhaut in den Lymphsack die mit Epithel bekleidete Fläche nach innen oder nach aussen gekehrt war, sowie nach der Grösse des Stückes der Epithelialfläche, welche in unmittelbare Berührung mit der Lymphflüssigkeit kam. Ueberall, wo die Descemet'sche Membran mit der Lymphflüssigkeit in Berührung kommt, fehlt, wenn keine Entzündung entstanden ist, das Fibrin entweder ganz, oder es ist doch in so geringer Menge vorhanden, dass ein evidenter Unterschied zwischen einer solchen Fibrinschicht und derjenigen existirt, welche man an der mit Epithel bekleideten Stelle findet. Diese minimale Bildung von Fibrin an der Descemet'schen Membran in der Nähe der Schnittränder rührt wohl entweder von einer Einwirkung der benachbarten Hornhautepithelien, oder von einer Entzündung des Lymphsacks her. Dass die Hornhautepithelien bei der Bildung der Fibrinschicht wie der homogenen Schicht eine ganz besondere Rolle spielen, ergiebt sich auch aus anderen Experimenten. Bringt man Hornhäute ein, deren

Epithel abgeschabt ist, so findet sich an den Schnitten von gebildeten Bläschen Anfangs nur minimale Entwicklung von Fibrin, welches sich später in Bindegewebe umwandelt aber nie in eine homogene Substanz (Fig. 5).

Schwieriger wird die Frage zu beantworten sein, ob vielleicht das Fibrin bei der Blasenbildung gänzlich fehlen und die Vereinigung der Hornhauträndes durch homogenes Gewebe allein vermittelt werden kann, wie ich das in einigen Fällen, wo die Hornhaut mit nach aussen gekehrter Epithelialfläche eingeführt worden war, schon nach zwölfstündigem Verbleiben des Präparats im Lymphsack gefunden habe. Dieser Befund ist jedoch nicht maassgebend, da das Fibrin schon vorher vorhanden sein und sich während des Verbleibens im Lymphsack in homogene Substanz umgewandelt haben konnte, zumal da man an erhärteten Blasenschnitten sehr oft unmittelbare Uebergänge von faserigem Fibrin in homogene Substanz sieht. Das Fibrin kann im Lymphsack auch noch andern Veränderungen anheim fallen, es kann nämlich gelöst werden. An Blasenschnitten findet man bei Anwesenheit einer Fibrinschicht immer, dass diese Schicht in den ersten Tagen der Bildung der Blase viel dicker ist als nach einer oder mehreren Wochen, wo das Fibrin oft schon ganz fehlt. Ausserdem habe ich bei einigen Schnitten gefunden, dass nicht nur das Fibrin, sondern auch die Descemet'sche Membran, welche die äussere Seite der Blase bekleidete, und selbst ein Theil des Hornhautbindegewebes gelöst wurde. Hier trat eine unmittelbare Verwachsung der Hornhauträndes ein. An Blasenschnitten sieht man, wie die eine Blasenwandung gegenüber der andern um $^3/_4$ der Dicke schmäler wird, so dass hier die Hornhautbindegewebsschicht, welche nicht mehr von der Descemet'schen Membran bekleidet ist, zum Theil aufgelöst sein muss und der Rest der Bindegewebsschicht nach aussen frei zu Tage tritt, während die andere dickere Blasenwandung noch von Descemet'scher Haut überzogen ist (Fig. 6). Wie bereits oben erwähnt wurde, findet man an Blasenschnitten in einzelnen Fällen, dass das homogene Gewebe ins Fibrin unmittelbar übergeht. Diese Thatsache spricht dafür, dass homogenes Gewebe aus Fibrin entsteht. In andern Fällen aber wird nur homogenes Gewebe an den Blasenschnitten gefunden (Fig. 1 b). Man muss also hier annehmen, dass das homogene Gewebe sich unabhängig vom Fibrin entwickelt, oder, dass das früher noch vorhandene Fibrin sich vollständig in homogenes Gewebe um-

gewandelt hat, oder aber dass sich beide zusammen entwickelt haben, das Fibrin indessen, welches an der Peripherie liegt, sich gelöst hat, während das homogene Gewebe zurückgeblieben ist. Diese dritte Ursache kann jedoch in Abrede gestellt werden, da die Lösung des Fibrins viel später erfolgt, das homogene Gewebe aber, wie gesagt, schon 12 Stunden nach Einführung der Hornhaut gefunden werden kann.

Die zweite Schicht, von aussen nach innen gezählt, ist die neugebildete Epithelialschicht. Wir wollen zunächst die Bildung dieser Schicht an solchen Blasen verfolgen, bei welchen die Hornhaut mit nach aussen gekehrter Epithelialfläche in den Lymphsack eingeführt wurde. Fertigt man Schnitte von derartigen Blasen, die nur zwölf Stunden im Lymphsack geblieben sind, an, so kann man schon constatiren, dass Epithelzellen neugebildet sind, welche sich der inneren Fläche der sie bedeckenden Fibrinschicht dicht anlegen. Die Zellen enthalten einen grossen körnigen Kern, der nur von einer schmalen Zone eines homogenen und etwas glänzenden Protoplasma umgeben ist, und hängen mit den inneren Zellen der alten Hornhautepithelialschicht zusammen, welche die Ausgangsstelle für diese Zellenneubildung sind. In den nächsten Tagen verlängern sich die durch die neue Epithelialschicht gebildeten Leisten durch neuen Zuwachs von Zellen immer mehr, indem sie sich der innern Fläche der Fibrinschicht dicht anlegen, ohne irgend welche Adhäsionen mit der Oberfläche der alten Epithelialschicht einzugehen. Nach 24 Stunden kann man einen abermaligen Zuwachs von Epithelialzellen constatiren (Fig. 7) und so fort, bis sich meistens nach 8 Tagen die beiden einander entgegenwachsenden Leisten treffen, und die Epithelialblase geschlossen wird. Der Zuwachs an Zellen hört aber damit noch nicht auf, vielmehr muss die Zellenneubildung noch weiter gehen (Fig. 1b, 1c); die neugebildete Blase vergrössert sich immer mehr, hebt sich von der innern Blase ab und der Raum zwischen beiden füllt sich mit Flüssigkeit. An Schnitten von Blasen, die sich aus mit nach innen gekehrter Epithelialfläche eingeführten Hornhäuten gebildet haben, kann man das Wachsthum von Epithelien ebenfalls verfolgen. Die Länge der neugebildeten Epithelialschicht hängt hier davon ab, ob die beiden Hornhautenden weit von einander entfernt sind, oder nicht. Im ersten Falle sind beide Hornhautenden durch Fibrin verbunden, an dessen innerer Fläche sich auch hier die neugewachsenen Epithelien dicht anlegen (Fig. 8).

Sind aber die Hornhautenden ganz einander genähert, so tritt eine unmittelbare Vereinigung derselben ein. Dann sind die Hornhautbindegewebsfasern so untereinander verflochten, dass sich die Verwachsungsstelle auf dem Schnitte nur durch die hineinragende Descemet'sche Membran und durch die Ablagerung von Irispigment markirt. Die beiden Enden der Hornhautepithelialschicht schmelzen zusammen, und es erfolgt nun kein weiteres Wachsthum von neuen Epithelien. Das Fibrin, welches Anfangs diese Verwachsung vermittelt, verschwindet nachher ganz (Fig. 3b). Die alte Epithelialschicht der Blase bietet unter dem Mikroskop in Schnitten sehr merkwürdige Erscheinungen dar, indem es nämlich scheint, als ob die Epithelien in das Hornhautbindegewebe hineingewuchert seien, ähnlich wie Cancroidzapfen. Evidente zapfenartige Einsenkungen lassen sich indessen nicht nachweisen, das Bild muss vielmehr auf starke Falten, welche sich an der Epithelialschicht wie an den inneren Hornhautschichten bilden, zurückgeführt werden (Fig. 3c).

Die übrigen Blasenschichten, die Hornhautbindegewebsschicht und die Descemet'sche Membran, verhalten sich für gewöhnlich normal. Die seltneren Modificationen derselben werden weiter unten besonders erwähnt werden.

Es muss nun noch besprochen werden, unter welchen Umständen die neue Epithelialschicht fehlen kann und wie sich die Zellen dieser Schicht gegenüber denjenigen der alten Epithelialschicht verhalten. Die Bildung der neuen Epithelien findet nur dann nicht statt, wenn nach der Einführung der Hornhaut sich intensive Entzündung in dem Lymphsack entwickelt, oder wenn die exstirpirte Hornhaut bei der Einführung nicht hinlänglich geschont worden ist, oder wenn die Frösche krank sind, z. B. Parasiten beherbergen, endlich wenn sie in ihrem Lymphsack für die Ernährung der Blasen nicht hinreichendes Material haben. Ist Entzündung aufgetreten, so bildet sich um die eingeführte Hornhaut eine sehr dicke Fibrinschicht, welche mit Wanderzellen durchsetzt ist. Die letzteren wandern auch zwischen die Fibrin- und Hornhautschicht ein, sammeln sich hier zu einer dicken Schicht an; dringen in das Hornhautbindegewebe ein und füllen auch die ganze innere Hülle aus. Dann kommt kein Wachsthum von Epithelien zu Stande; die alten fallen einer Schmelzung oder fettigen Metamorphose anheim.

Dass die neuen Epithelien sich anders wie die alten verhalten, geht schon daraus hervor, dass die ersten häufig Irispigment ent-

halten, welches auch in den Zellen, die im Blaseninhalt liegen, zu finden ist. Dieser Umstand hat mich veranlasst, nach der Einführung der Hornhaut in den Lymphsack noch einen dicken Tropfen einer Mischung von Zinnober mit Kochsalzlösung vermittels einer Capillarpipette einzuspritzen. Die hier sich entwickelnde und nach einer Woche aus dem Lymphsack herausgenommene Blase, welche sich aus einer mit nach aussen gekehrter Epithelialfläche eingeführten Hornhaut gebildet hatte, liess an Schnitten unter dem Mikroskop erkennen, dass die neue Epithelialblase schon geschlossen war, und alle Epithelzellen, aus welchen sie zusammengesetzt war, Zinnober enthielten, während die alten Epithelzellen vollkommen frei von ihnen waren. Dasselbe zeigte sich wiederholt bei mit nach innen gekehrter Epithelialfläche eingeführten Hornhäuten, nur vereinigten hier zinnoberhaltige Zellen die beiden Hornhautenden (Fig. 8). Hieraus schliessen wir, dass die neuen Epithelialzellen Zinnober aufnehmen können, und in dieser Eigenschaft mit andern contractilen Zellen übereinstimmen. Daher lässt sich vermuthen, dass die jungen Epithelien auch wanderungsfähig sind. Wenigstens spricht hierfür der Umstand, dass man oft in Schnitten von Blasen, die sich bei Gegenwart von Zinnober entwickelt haben, findet, dass diejenigen jungen Epithelialzellen welche in der zwischen der alten und neuen Epithelialschicht befindlichen, sowie in der von der Descemet'schen Membran gebildeten Höhle frei liegen, auch Zinnober enthalten. Was die erstere Höhle anbetrifft, so konnten vielleicht die neugebildeten Epithelzellen an den Enden der herauswachsenden Epithelialleisten nicht haften geblieben, sondern in diese Höhle hinein gefallen sein, dagegen mussten die neuen Epithelialzellen, um in die zweite Höhle zu gelangen, die Fibrinschicht passiren.

Bei der Zerzupfung von Blasen, welche 1 bis 2 Wochen im Lymphsack geblieben sind, ohne Entzündung zu veranlassen, ergiebt sich, dass die Hornhautepithelialschicht nur schwierig von dem bindegewebigen Theil zu trennen ist, in welchem letzteren die Hornhautkörperchen mit ihren Fortsätzen deutlich zu erkennen sind. Mitunter finden sich jedoch auch Fetzen eines homogenen Gewebes, welche entweder der Descemet'schen, oder der beschriebenen äussersten Membran des Bläschens angehören. Letztere ist durch die an ihr haftenden Epithelien, oder durch das Fibrin charakterisirt, das sich bei der Entzündung gebildet hat und stark mit Wanderzellen durchsetzt ist. In diesen Fällen ist auch die Epithelialschicht leicht von

der Bindegewebsschicht zu trennen, und die Epithelien selbst sind meistens fettig degenerirt. Ist hingegen keine Entzündung eingetreten, so sehen die Epithelien ganz frisch aus, mehrere Zellen enthalten alsdann zwei Kernkörperchen, während der Kern in Theilung begriffen ist. Dasselbe findet sich bei Präparaten, die erst in der sechsten Woche, oder gar nach zwei Monaten herausgenommen wurden. Nur kommen dann andere Zellen hinzu, die neu gebildet wurden. Es finden sich nämlich Epithelien, die ein bis zwei Kerne enthalten, dann Zellen mit 3, 4, 5, 6, 7 Kernen bis zu Riesenzellen mit 20—30 Kernen (Fig. 9). Die Riesenzellen verhalten sich gerade so, wie die Epithelzellen, sie haben die gleichen Kerne und Kernkörperchen, ihr Protoplasma ist dem der Epithelien ganz ähnlich, sie haben dieselbe polygonale Gestalt und hängen sogar oft mit gewöhnlichen Epithelialzellen zusammen. Schon aus dieser Aehnlichkeit, sowie dem Vorkommen der Uebergangsformen ergiebt sich, dass solche Riesenzellen dieselbe Natur haben, wie die gewöhnlichen Epithelien. Doch werden wir weiter unten noch mehr Anhaltspunkte hierfür kennen lernen. Ausser den genannten Formen findet man noch eine grosse Menge von jungen Epithelien und glänzenden Kugelzellen, welche Körnchen enthalten. Seltener kommen Epithelialzellen mit Stacheln auf einer Seite vor, sowie freie, oder untereinander durch Fortsätze verbundene Kolbenzellen, Becherzellen und runde Zellen mit grobkörnigem Protoplasma, einem oder zwei Kernen, Haaren und mitunter Vacuolen im Innern. Solche Vacuolen treten in sehr verschiedener Weise auf und kommen bei mehreren Zellenarten vor. Man findet sie im Inneren von Klumpen, die offenbar aus zusammengeklebten Zellen bestehen. Freilich sind die Zellen hier nur undeutlich durch Linien, welche von der Peripherie nach dem Centrum hin verlaufen, zu erkennen, sowie durch Bruchstücke von Kernen, welche hin und wieder zu finden sind. Das Protoplasma der Klumpen ist ebenso punktirt, wie das der Epithelialzellen, nur glänzender. Vacuolen bilden sich auch in Riesen- und gewöhnlichen Epithelialzellen. Sie unterscheiden sich von den Zellen durch ihre dickeren und aufgeworfenen Ränder. In ihrer Höhle schwimmen oft Bruchstücke von rothen Blutkörperchen oder fettartige Tropfen. Manchmal bilden sich so grosse Vacuolen, dass von den betreffenden Zellen nur noch Rahmen übrig bleiben, welche viereckig oder rund sind und zuweilen zu je zwei zusammenhängen. Mitunter liegt in solchen Rahmen eine Zelle mit einem oder meh-

reren Kernen; die Zelle ist zwar deutlich vom Rahmen abgegrenzt, aber doch noch hinlänglich adhärent, um nicht heraus zu fallen.

Die Untersuchung der Bläschen in späterer Zeit, wo sie schon collabirt sind, also nach 2, 3, 4 Monaten, zeigen, dass von den Epithelien dann die einen fettig degenerirt, die andern einfach zerschmolzen und in Bruchstücke zerfallen sind. Auch enthalten sie um diese Zeit häufig Pigment, das aus der Iris stammt. Die Riesenzellen verhalten sich ebenfalls nach dem Alter verschieden. In jüngern sieht man nur entweder ganz freie oder zur Hälfte von einer Kerncontour umgebene Kernkörperchen, in älteren dagegen sind die Kerne schon vollständig gebildet, oder aber man findet die ganze Zellenoberfläche von kleinen Tröpfchen bedeckt, welche hie und da zu grössern Tropfen zusammenfliessen und sich wie Fett verhalten; zuweilen enthalten sie auch Pigment.

Der Blaseninhalt kann an frischen oder erhärteten Präparaten untersucht werden. Am besten schneidet man die Blase mit der Scheere kreuzförmig auf. Bei gut entwickelten Bläschen kann dann der Inhalt ohne Zusatz zur Untersuchung verwendet werden, während bei kleineren etwas schwache Kochsalzlösung zugesetzt werden muss. Die Beschaffenheit des Blaseninhalts hängt von dem Alter der betreffenden Blase, sowie davon ab, ob Entzündung eingetreten war, wodurch die zelligen Elemente degeneriren und absterben. Ist Entzündung nicht eingetreten, so kann man bei gut entwickelten Blasen im Allgemeinen annehmen, dass dieselben nach 1, 2, 3 Wochen schon ziemlich stark durch flüssigen Inhalt gespannt sind und junge Epithelien enthalten, deren Kerne zwei Kernkörperchen enthalten, oder in Theilung begriffen sind, oder endlich sich bereits in zwei getheilt haben. Ausserdem finden sich zu dieser Zeit noch Blut- und Lymphkörperchen, welche zuweilen mit Fibrinfasern zusammenhängen, sowie schon vollständig ausgewachsene Epithelialzellen. Ferner findet sich im Blaseninhalte eine grosse Menge glänzender Kugelzellen, die sogar den Hauptbestandtheil desselben bilden, von der Grösse der weissen Froschblutkörperchen bis über die des rothen hinaus. Sie nähern sich den jungen Epithelien und enthalten Kernchen in verschiedener Menge (Fig. 10, a). Bei frischen Präparaten bekommen einige dieser Kugelzellen, wenn sie kurze Zeit im Untersuchungsmedium gelegen haben, Haare. Bei Zusatz von Essigsäure erblassen sie, ihre Kerne werden anfangs deutlicher, verschwinden aber später vollständig unter Aufquellung der Zelle selbst, von der

noch eine Zeitlang eine kreisförmige Contour erhalten bleibt. Nun enthalten aber diese glänzenden Kugelzellen öfters Irispigment; so pigmentirte Kugelzellen habe ich sowohl in dem ausgeflossenen Blaseninhalt, als auch in den beiden beschriebenen Höhlen zwischen den Blasenschichten constatirt. Auch lassen die Untersuchungen der Blasen, die sich bei Gegenwart von Zinnober entwickelt haben, in den glänzenden Kugelzellen Zinnober nachweisen. Hieraus ergiebt sich, dass die glänzenden Kugelzellen den Wander- und Epithelialzellen in so fern ähnlich sind, als ihr Protoplasma auch contractil ist. Wesentlich verschieden von ihnen sind sie aber, sowohl durch ihr Aussehen, als auch durch ihr Verhalten gegen die Reagentien, wie das eben auseinandergesetzt wurde. Ich muss diese Kugelzellen von den Epithelien, nicht von anderen Zellen (Lymphkörperchen etc.) herleiten, da sie bei Einführung von Hornhäuten, welche ihres Epithels beraubt sind, wie das aus den nächstfolgenden Experimenten hervorgeht, nicht zu finden sind. Ob sie jedoch Producte von Epithelien sind, oder selbst zur Epithelialbildung Material liefern, steht noch dahin.

Nach sechs Wochen bis 2, 3 Monaten finden sich im Blaseninhalte zwischen den Epithelzellen auch Riesenzellen, welche auch hier wiederum, je nach ihrem Alter, ein verschiedenes Verhalten zeigen, wie dies bei den Zerzupfungspräparaten beschrieben wurde. Wichtiger und deutlicher sind die Veränderungen, welche nach dieser Zeit an den glänzenden Kugelzellen eingetreten sind. Einige von ihnen sind um diese Zeit bis zur Hälfte, andere ganz mit dunkel contourirten Körnchen gefüllt, die so dicht stehen, dass sie sich unmittelbar berühren (Fig. 10, b). Auf Zusatz von Essigsäure quellen die Zellen auf, die Körnchen werden etwas gelockert und grösser, man erkennt jetzt, dass die letzteren Fetttröpfchen sind (Fig. 10, c). Ebensolche Fetttröpfchen sind in den schon in ziemlich reichlicher Menge vorhandenen, gewöhnlichen Körnchenkugeln enthalten.

Wir gehen jetzt dazu über, diejenigen Blasen zu besprechen, welche entstanden waren, nachdem nur einzelne Theile der Hornhaut eingeführt worden waren.

Wichtig war es ja zu erfahren, ob sich überhaupt bei Einführung einzelner Hornhauttheile Blasen bilden. Letztere lässt sich in zwei Schichten trennen, nämlich in die Bindegewebsschicht mit der Descemet'schen Membran und in die Epithelialschicht mit der

Bowman'schen Membran. Um die Bindegewebsschicht zu isoliren, schabte ich die Hornhautepithelialschicht, nachdem die hierzu verwandten Frösche auf einem Brette befestigt und ihre Augenlider vermittelst durchgezogener Fäden ektropionirt waren, mit dem Gräfe'schen Messer sorgfältig ab. Während dieser Operation wurde die Hornhaut mehrere Male mit Kochsalzlösung abgespült. Die Hornhaut selbst wurde nun erst eine halbe Stunde später exstirpirt, um ihr genügende Zeit zu lassen, ein stärkeres Exsudat in sich aufzunehmen. Im Lymphsack schliesst sich die so präparirte Hornhaut durch Fibrin zu einer Blase, welche jedoch nie eine grosse Ausdehnung erlangt. Sie stellt sich bei der Betrachtung mit schwacher Vergrösserung als ein etwas abgeplattetes Bläschen mit dunkler linearer Verwachsungs-Stelle auf der Oberfläche dar, welche Linie seitlich von Pigmentkörnchen umgeben ist. In späterer Zeit entwickeln sich an einer solchen Blase auch mitunter Blutgefässe. Wird die Hornhaut nach ein paar Tagen bis zu einer Woche aus dem Lymphsack herausgenommen, so zeigt die Hornhautbindegewebsschicht unter dem Mikroskop sehr schöne Hornhautkörperchen, welche gut ramificirte Fortsätze besitzen, selbst in späterer Zeit vollständig intact bleibend. Nur in einigen Fällen habe ich sie an Präparaten, welche zu einem späteren Termin aus dem Lymphsack herausgenommen waren, etwas schmäler gefunden. Die Wanderzellen in der Hornhautbindegewebsschicht nehmen sehr reichlich, wenn Entzündung eingetreten ist, zu, auch sind hier einige von ihnen, sowie von den fixen Hornhautkörperchen fettig degenerirt, die Bindegewebsschicht selbst ist mit zahlreichen Fetttröpfchen bedeckt und in eine starke Fibrinschicht eingekapselt. Im Inhalt gut entwickelter Blasen sind Lymphkörperchen, Wanderzellen, bei später herausgenommenen Präparaten auch eiweissartige körnige Massen und Körnchenkugeln suspendirt. Was die Endothelien, welche die Descemet'sche Membran bekleiden, anbetrifft, so habe ich sie in keiner im Lymphsack gebildeten Blase mehr auffinden können. Die zufällig mit eingeführten sternförmigen Irispigmentzellen aber werden nach einem zwei- bis dreimonatlichen Verweilen im Lymphsack in rundliche Klumpen umgewandelt. Glänzende Kugelzellen sind im Inhalte solcher Blasen nicht zu finden.

Die Abtrennung der Hornhautepithelialschicht mit der Bowman'schen Membran habe ich so vorgenommen, dass ich die exstirpirte Hornhaut mit nach unten gerichteter Descemet'schen Mem-

bran in einem ganz flachen Uhrglas, welches etwas Lymphserum enthielt, ausbreitete, dann einen Rand der Hornhaut mit der Nadel festhielt. neben der so fixirten Stelle mit dem Linearmesser einen kleinen Einschnitt machte und nun die zu verwendende Membran abschälte. Die aus dieser Membran (Epithelschicht und Bowman'sche Schicht) gebildeten Blasen sind dünner, als aus ganzen Hornhäuten, verhalten sich denselben aber, was Bildung, Inhalt und die bei der Zerzupfung erhaltenen Elemente anlangt, ganz analog, ausgenommen dass bei gut gelungener Operation von der Hornhautbindegewebsschicht Nichts vorhanden ist, während sich in andern Fällen etwas davon findet. Bei der Betrachtung mit schwacher Vergrösserung lässt sich an solchen Blasen das eingeführte Gewebe ganz gut von dem neugebildeten unterscheiden, an welchem letzteren mosaikartig angeordnete Epithelien deutlich zu sehen sind (Fig. 11).

Alle bisher beschriebenen Arten von Blasen unterliegen in seltenen Fällen noch besonderen Veränderungen. Es entwickeln sich nämlich auf ihrer Oberfläche Blutgefässe. So konnte man an einer Blase, die sich nach Einführung einer ganzen Hornhaut mit nach aussen gekehrter Epithelialfläche gebildet hatte und nach 3 Monaten aus dem Lymphsack herausgenommen worden war, Folgendes schon mit schwacher Vergrösserung beobachten (Fig. 12). An dem einen Blasenende verläuft ein etwas dickeres Gefäss, welches sich ein wenig biegt und in ein feines Gefässnetz auflöst, das die ganze Blase umgiebt; dieses Netz communicirt auf der entgegengesetzten Seite mit einigen etwas dickeren Stämmchen. Auf der Oberfläche des Bläschens liegen hie und da Pigmentkörnchen und einige graue Flöckchen, welche in feinen Schnitten bei starker Vergrösserung, theils als fettig degenerirte Epithelien, theils schon als freie Fetttröpfchen erkannt werden. An der Peripherie des Bläschens flottiren einige Stiele, welche nach der mikroskopischen Untersuchung, aus Fibrin bestehen und keine Blutgefässe enthalten, mit eben diesen Stielen adhärirte die Blase an den Wandungen des Lymphsacks. Eine andere Blase lag ganz frei im Lymphsack, war aus einer Hornhaut mit nach innen gekehrter Epithelialfläche entstanden und nach zwei Wochen aus dem Lymphsack herausgenommen (Fig. 13). Diese Blase zeigte bei der Betrachtung unter dem Mikroskop auf der Oberfläche seitlich von der Verwachsungslinie die allerersten Anfänge von Gefässen, die nach einigen Ramificationen blind endigten, ohne sich in ein eigentliches Gefässnetz aufzulösen. Eine dritte Blase,

welche sich nach Einführung einer Hornhaut, deren Epithel abgeschabt war, gebildet hatte und nach 3 Monaten aus dem Lymphsack herausgenommen wurde, zeigte bei der Betrachtung mit schwacher Vergrösserung ein ähnliches Gefässnetz und ähnliche Stiele, wie die erste Blase. In allen drei Blasen hatten sich also Gefässe entwickelt. Dies kann nun auf zweierlei Wegen geschehen, die Gefässe können nämlich von den Lymphsackwandungen unter entzündlichen Vorgängen auf die Blasen übergehen, oder in den Blasen selbst ihre Entwicklung finden. Die Entscheidung dieser Frage wird dadurch erschwert, dass die Fibrinschicht im Lymphsack, wie oben gezeigt, gelöst werden kann, wodurch alle Spuren von Adhäsionen verschwinden. Indessen lässt der Umstand, dass nur die allerersten Anfänge der Gefässe bei der zweiten vollkommen freien Blase vorhanden waren, der weitere Umstand, dass in den beiden andern Blasen Gefässe in den flottirenden Stielen, welche die Blase mit den Lymphsackwandungen verbinden, vollkommen fehlten, mit einiger Wahrscheinlichkeit schliessen, dass sich die Gefässe unabhängig von den Lymphsackwandungen in den Blasen selbst entwickelt hatten. Unter dem Mikroskop sah man an Schnitten der beiden zuerst genannten Blasen Gefässe innerhalb der Fibrinschicht liegen, welche in der ersten mit ganz feinem Saume die Peripherie der Blasen umgiebt, in der zweiten die beiden Hornhautenden verbindet. Diese Gefässe drangen jedoch in die Hornhaut selbst nicht ein. Unmittelbar unter der Fibrinschicht lag in beiden beschriebenen Blasen die Epithelialschicht. An Schnitten von der dritten Blase sah man die Descemet'sche Membran nach innen liegen, die Gefässe von der Peripherie aus in die Tiefe des Hornhautbindegewebes auf's deutlichste hinein dringen, welche eine starke Vermehrung der Zellen an Stelle der Hornhautkörperchen darbot. Die Zellen häuften sich an einigen Stellen zu dichten Gruppen an, welche concentrische Schichtungen zeigten und auffallende Aehnlichkeit mit Cancroidzwiebeln hatten.

Ueber die Proliferation und Vermehrung der Flimmerepithelien lässt sich nach meinen Experimenten nicht viel sagen. In drei Fällen fand ich nach Einführung von Flimmerepithelien in den Lymphsack, wo dieselben 1 Monat blieben einige, mit Wimperhaaren versehene Zellen, welche 2—3 Kerne enthielten. Die eingeführten Flimmerepithelien selbst verhalten sich äusserst resistent in dem Lymphsack. Bei der Einführung ausgeschnittener Stückchen der Froschmundschleimhaut in den Lymphsack, oder abgeschabter Epi-

thelien derselben, oder endlich bei Einführung von Stückchen der Eierstocksumhüllung des Frosches, welche Objecte sämmtlich nach 1, 2, 3, 4, 5 Monaten aus dem Lymphsack wieder herausgenommen wurden, fand ich, dass die Epithelien selbst nach 5 Monaten noch ganz frisch waren, und ihre Flimmerung vollständig beibehalten hatten. Einige Flimmerzellen klebten, Klumpen bildend, zusammen, während ihre Flimmerhaare nach aussen gekehrt waren. Diese Klumpen lagen entweder in besonderen Höhlen innerhalb des Fibringewebes, oder frei in der Untersuchungsflüssigkeit und machten vermittels der Flimmerhaare nach verschiedenen Richtungen hin Drehbewegungen.

Die beim Studium des Epithelialwachsthums bereits erhaltenen Resultate veranlassten mich auch zu untersuchen, ob ein ähnliches Wachsthum auch an den Endothelien experimentell herzustellen ist. Hierzu konnte ich die Hornhaut nicht benutzen, welche ein für die Untersuchung der Epithelien so günstiges Object darstellte, da die der Descemet'schen Membran angehörigen Endothelien, wie schon oben bemerkt, nach einigem Verbleiben im Lymphsack nicht mehr zu finden sind. Desshalb musste ich mich anderer Untersuchungsobjecte bedienen und habe das Pericardium, Mesenterium u. s. w. verwendet; am einfachsten gelangen mir jedoch die Experimente, indem ich die Hühnereimembran einführte. An Zerzupfungspräparaten aller Objecte, die ich benützte, nachdem dieselben 3—6 Wochen im Lymphsack verweilt hatten, und hier der Reihe nach besprochen werden, untersuchte ich dann die einzelnen neugebildeten Zellen.

A. Es wurde ein quadratförmiges Stückchen von der Hühnereimembran ausgeschnitten, in den Lymphsack eingeführt und nach Verlauf der oben angegebenen Zeit herausgenommen; dann wurde das Präparat sofort frisch in eine $^1/_4\%$ Lösung von Argent. nitric. getaucht und in derselben $^1/_2$ Minute liegen gelassen. Nachdem dasselbe hierauf wieder herausgenommen und mehrere Male mit Kochsalzlösung abgespült war, wurde es mit Glycerin unter das Deckgläschen gelegt. An den meisten Präparaten sieht man unter dem Mikroskop nur undeutliche schwarze Linien, die indessen nicht von regelmässigen Endothelzellencontouren umgeben sind, da die Präparate häufig mit Fibrin bedeckt sind. Aber an gut gelungenen Präparaten kommen schöne schwarze Linien ganz deutlich zum Vor-

schein und grenzen jede Endothelzelle von ihrer Nachbarschaft ab. In den schwarzen Grenzlinien sind kleine Ringe eingeschaltet, ähnlich den Bildungen, welche man an den Endothelmembranen als Stomata bezeichnet hat. In einigen Endothelzellen grenzen sich die Kerne scharf ab, in andern sind sie von dem Protoplasma der Zelle durch ihre geringere braune Färbung zu unterscheiden (Fig. 14). An Zerzupfungspräparaten der Hühnereihaut, welche in schwacher Kochsalzlösung, deren ich mich auch bei den Zerzupfungspräparaten der folgenden Gewebe bediente, angefertigt worden waren, beobachtete ich, dass zwischen einigen Stückchen der zerzupften Membran eine grosse Menge von ganz kleinen Endothelialkernen klebt, bei denen entweder gar kein Protoplasma, oder doch ein solches nur sehr undeutlich zu sehen ist. Mitunter aber häufen sich diese Kerne in sehr grosser Menge zu 100 und noch viel mehr in einer einzigen Protoplasmascholle an, welche etwas punktirt erscheint und mehr oder weniger deutliche Ränder hat, von denen nach verschiedenen Richtungen Fortsätze ausgehen (Fig. 15, a). Unter den zelligen Elementen, die hier gefunden werden, sind die Riesenzellen die auffallendsten. Sie unterscheiden sich wesentlich von den Riesenzellen, die von wahren Epithelzellen stammen und welche wir bei der Bildung der Hornhautblasen kennen gelernt haben. Sie enthalten nämlich eine sehr grosse Menge von Kernen bis zu 60 und mehr, welche den Endothelkernen des Lymphsacks, sowie auch denjenigen Endothelkernen ganz analog sind, die in den erwähnten Protoplasmaschollen, ferner isolirt zwischen den Stückchen der zerzupften Membran liegen. Das Protoplasma der Riesenzellen ist sehr blass und undeutlich, quillt bald in Kochsalzlösung auf, so dass die ganze Zelle wie eine Kugel erscheint, die mit einigen Fortsätzen versehen ist, und in demselben lassen sich bei richtiger Einstellung mit der Mikrometerschraube in verschiedenen Schichten gelegene Kerne constatiren (Fig. 15, b).

Die Riesenzellen blassen aber in der Kochsalzlösung immer mehr ab, werden immer undeutlicher, bis sie schliesslich ganz verschwinden. Durch Zusatz von etwas destillirtem Wasser zur Kochsalzlösung gelingt es, sie für kurze Zeit wieder sichtbar zu machen, dann verschwinden sie abermals und nur in sehr seltenen Fällen ist es möglich, die Präparate einige Stunden in der feuchten Kammer zu erhalten. Von anderen Zellenarten findet man vermischt mit Endothelkernen Lymphkörperchen, welche in der Untersuchungsflüssigkeit,

sowie oft mit den Fibrinstückchen zusammen hängend gefunden werden.

B. Ein anderes einfaches Gewebe, dessen ich mich bei der Untersuchung bediente, ist die Nabelschnur, von der feine Längsschnitte in den Lymphsaek eingeführt wurden. Allein sogar von ganz frischer Nabelschnur entnommene Stückchen erregten stets Entzündung im Lymphsack der Frösche, und letztere gingen dadurch gewöhnlich zu Grunde. Gelingt es aber, die Frösche lange genug am Leben zu erhalten, so findet man bei der Zerzupfung der aus dem Lympsack genommenen Stückchen, dass das Gewebe etwas erweicht und leicht in Fasern zu zerlegen ist, dass die Endothelialkerne und Riesenzellen von derselben Natur, wie die bei der Zerzupfung der Hühnereihaut erhaltenen, nur in geringer Quantität, die Wanderzelleu hingegen in viel grösserer vorhanden sind.

C. Schneidet man kleine Stückchen aus der Mitte der Lunge, Milz oder Leber des Frosches heraus und führt dieselben in den Lymphsack ein, so findet man bei Zerzupfung der wieder herausgenommenen Präparate unter dem Mikroskop, dass die specifischen Zellen, aus denen die genannten Organe bestehen, durch fettige Degeneration so verändert und so blass sind, dass man sie kaum noch erkennen kann. Dafür kommen aber sehr viele Endothelialkerne zum Vorschein, die hie und da mit ganz blassem Protoplasma umgeben sind. In den Lungenalveolen habe ich an Schnitten von erhärteten Präparaten sehr viele Endothelzellen gefunden. Allein die Zeit erlaubte mir nicht genau zu untersuchen, ob dieselben nur deutlicher gewordene Alveolarbekleidung, oder aus dieser neugebildete Endothelialzellen waren, oder aber ob sie aus der Lymphsackbekleidung gebildet und dann in die Lungenalveolen abgelagert waren.

D. Stücke des Mesenterium oder des Pericardium lassen sich, nachdem sie die angegebene Zeit im Lymphsack verweilt haben, mit ziemlicher Leichtigkeit zerzupfen. Ausser den Endothelialkernen, welche sich ganz ähnlich wie die beiden im Vorhergehenden beschriebenen Präparate verhalten, findet man die Endothelzellen, welche den genannten Membranen selbst angehören. Einige haben in ihren Kernen zwei Kernkörperchen, bei andern sind die Kerne schon in Theilung begriffen. Auch sind Riesenzellen zu sehen, welche sich aber anders verhalten, als die aus Epithelien oder Lymphsackendothelien gebildeten. Sie sind nicht polygonal, sondern mit zahlreichen Fortsätzen versehen. Die Kerne derselben stimmen ganz mit den übrigen En-

dothelialkernen überein, aber sie selbst sind resistenter, als die aus der Lymphsackbekleidung entstandenen, sie quellen nicht auf in Kochsalzlösung, mit welcher sie längere Zeit in der feuchten Kammer aufbewahrt werden können; ja sie halten sich sogar nach Einkittung der Präparate auf längere Zeit (Fig. 16). Aus dem Gesagten ergiebt sich, dass die Riesenzellen ihrer Entstehung nach verschieden sein können, und bei genauer Betrachtung derselben lässt sich ermitteln, ob sie Producte von Epithelien oder Endothelien sind.

E. An Stückchen, die den Gelenkkapseln oder der Achillessehne des Frosches entnommen und 4—6 Wochen im Lymphsack geblieben sind, findet man das Gewebe bei der Zerzupfung sehr weich und teigig, besonders bei der Achillessehne, deren Präparate in ganz isolirte feinste Fasern zu zerlegen sind. Will man Letzteres erreichen, so ist die Einführung in den Froschlymphsack entschieden zu empfehlen. Was die zelligen Elemente anbetrifft, so verweise ich auf das hierüber beim Mesenterium und Pericardium Gesagte.

Endlich habe ich noch Muskelstückchen eingeführt und daran eigenthümliche Resultate wahrgenommen.

Führt man Muskelstückchen aus der Mitte irgend eines Oberschenkelmuskels des Frosches in den Lymphsack ein, so findet man nach Verlauf der nöthigen Zeit bei der Zerzupfung die schon bei den andern Geweben besprochenen Endothelialkerne, welche sowohl zwischen den bei der Zerzupfung erhaltenen Stückchen des Muskelgewebes, als auch dem Fibrin, in das jene öfters eingehüllt sind, liegen. Ausserdem aber zeigt das Muskelgewebe selbst verschiedene Veränderungen und Neubildungen, auf die wir etwas näher eingehen wollen. Wird das Muskelstückchen nach zehntägigem Verbleiben im Lymphsack herausgenommen und zerzupft, so sieht man an den meisten Muskelfasern die Querstreifung nicht mehr, während andere dieselbe noch zeigen. Statt der Querstreifen sind an mehreren Muskelfasern Längsstreifen zu beobachten. In dem Zwischengewebe zwischen den Muskelfasern und innerhalb derselben liegen Klumpen, die unregelmässige Contouren haben und ganz wie contractile Muskelsubstanz aussehen, nur nicht gestreift sind. Nach Zusatz von Essigsäure werden in den letztern 1—4 Kerne sichtbar (Fig. 17 a). Wird das eingeführte Muskelstückchen erst nach 20 Tagen zerzupft, so sieht man ausser dem eben Angeführten an dem Präparate, dass einige Klumpen fettig degenerirt sind, jedoch nach Zusatz von Essigsäure erblassen und Kerne zeigen (Fig. 17 b u. c), dass aus andern ziem-

lich lange Fortsätze herausgewachsen sind (Fig. 17 (d)), welche letzteren Zellen nur im Zwischengewebe, zwischen den Muskelfasern, liegen. Jedoch ist an diesen Zellen eine Querstreifung nicht zu sehen, auch nicht bei Präparaten, die in späterer Zeit nach 1 Monat herausgenommen wurden, wo das Gewebe selbst sehr stark geschrumpft und die einzelnen Muskelfasern nur durch das deutlich sich markirende Sarkolemma zu unterscheiden sind. Das Sarkolemma ist bei einigen Muskelfasern mit Fetttröpfchen durchsetzt. andere Sarkolemmaschläuche sind mit grossen Körnchenkugeln gefüllt und jene zwischen den Muskelfasern liegenden und mit Fortsätzen versehenen Klumpen waren ebenfalls in Körnchenkugeln umgewandelt. Werden von einem solchen Präparat, nachdem es in Müller'scher Flüssigkeit erhärtet worden ist, Schnitte angefertigt, so sieht man unter dem Mikroskop Quer- und Längsschnitte von Muskelfasern, die sehr viele Kerne zeigen (Fig. 18). Sie liegen in Längsreihen oft sehr regelmässig; ob sie bloss Kerne oder Zellen sind, ist bei ihrer Kleinheit schwer festzustellen.

Die Resultate meiner bezüglichen Untersuchungen lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1) In der Lymphe kann eine Neubildung der Epithelien und Endothelien stattfinden.

2) In der Lymphe nehmen die Kerne sowohl in Muskelfasern, als auch in andern zelligen Elementen zu.

3) In der Lymphe geschieht die Bildung von Riesenzellen aus Epithel- und Endothelzellen. Am Aussehen der Riesenzellen ist zu erkennen, ob sie sich aus den ersteren oder letzteren gebildet haben.

4) Durch gegenseitiges Aufeinanderwirken der Epithelien und Lymphe wird Fibrin gebildet. Wahrscheinlich auf gleiche Weise entsteht eine homogene Substanz, welche in Form einer structurlosen Membran auftritt. Wo Fibrin mit Epithel nicht in Berührung steht, wird es nicht in homogene Substanz, sondern nur in Bindegewebe umgewandelt. Wie jene homogene Membran, entsteht wahrscheinlich auch die Zona pellucida.

5) Die Lymphe ist im Stande, sowohl das im Lymphsack gebildete Fibrin allmählig zu lösen, als auch auf Bindegewebe erweichend einzuwirken und dasselbe in Primitivfasern zu zerlegen, schliesslich sogar zu lösen.

6) Nur die untersten Epithelialschichten vermögen neue Epithelien zu produciren; den oberen fehlt diese Fähigkeit.

7) Die Richtung, in welcher sich die neugebildeten Epithelialschichten ausbreiten, hängt davon ab, wie sich das Fibrin oder die homogene Gewebsschicht zu der Stelle verhält, von wo die Epithelien zu wachsen anfangen.

8) Hat sich keine Entzündung im Lymphsack eingestellt, so wird die neu herausgewachsene Epithelialschicht nach 8 Tagen zu einer Blase geschlossen.

9) Das Wachsthum der Epithelien und Endothelien im Lymphsack erfolgt ohne Betheiligung der zelligen Elemente der Blutgefässe und des Blutes selbst.

10) Die neugewachsenen Epithelzellen können Zinnober aufnehmen, sind also wahrscheinlich contractil.

Strassburg, 20. Juli 1873.